

PENGHARGAAN

Syukur ke hadrat Allah S.W.T di atas limpah kurnia-Nya, saya dapat menyiapkan projek ini dengan jayanya. Justeru itu, saya ingin mengambil kesempatan di sini untuk merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada penyelia projek, Prof. Madya Mohamad Nasir Mohamad Ibrahim dan penyelia projek bersama, Dr. Coswald Stephen Sipaut @ Mohd. Nasri di atas sokongan dan bantuan yang telah dicurahkan tanpa jemu. Sepanjang projek ini dijalankan, banyak pengalaman yang dapat dikongsi bersama, sama ada dalam suka atau duka. InsyaAllah segala kenangan manis sepanjang Disember 2005 hingga Mac 2009 di makmal lignin akan sentiasa terpahat dalam ingatan.

Sekalung penghargaan juga buat semua staf Pusat Pengajian Sains Kimia, kakitangan akademik mahupun staf sokongan. Tidak lupa juga kepada pembantu makmal yang banyak memberi tunjuk ajar dan ilmu berguna kepada saya sepanjang projek ini dijalankan, antaranya adalah En. Sobri, En. Nazif, En. Ali, Mr. Aw Yeong, Mr. Yee dan ramai lagi yang membantu.

Selain itu, tidak lupa juga kepada rakan seperjuangan iaitu Sharifah Najihah yang banyak memberi kata-kata semangat kepada saya dalam menyiapkan projek ini. Buat Norliyana, terima kasih yang tidak terhingga di atas segala sokongan, pandangan dan semangat sepanjang kita bersama di makmal lignin. Tidak ketinggalan juga kepada Kak Azian, Norhidaya, Yoga, Rashid dan Tanjung, terima kasih atas segala pandangan dan kritikan yang diberikan. Kritikan dan pandangan anda semua amat berguna kepada saya terutama dalam menambahbaikkan

projek ini. Tidak lupa juga kepada Makcik Fauziah, terima kasih di atas segala nasihat dan peringatan yang penting kepada saya supaya terus tabah dalam mengharungi cabaran hidup ini.

Saya juga ingin mengambil kesempatan untuk merakamkan rasa kasih dan penghargaan buat keluarga tersayang, ayahanda Mohamad Yusof bin Othman dan bonda Khatijah binti Abd. Rahman yang tidak putus-putus memberi semangat dan sentiasa mendoakan kejayaan anakanda. Buat Alep (Mohamad Halif), Aby (Nadhirah) dan Hanis (Hanis Nabihah), terima kasih kerana sentiasa mendoakan kejayaan kakak. Kepada arwah Khairul Azmi Bin Abdul Rashid, segala memori indah, kata-kata semangat, kritikan dan idea-idea bernas sepanjang kita bersama akan sentiasa tersemat di dalam hati ini sebagai pendorong untuk mengharungi cabaran mendatang. Semoga senantiasa dicucuri rahmat-Nya dan ditempatkan di kalangan orang-orang yang beriman. Al-Fatihah.

Akhir kata, semoga segala jasa baik semua pihak sama ada secara langsung ataupun tidak langsung akan mendapat keberkatan daripada Allah S.W.T. Amin.

SUSUNAN KANDUNGAN

	Muka surat
PENGHARGAAN	ii
SUSUNAN KANDUNGAN	iv
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	ix
SENARAI SINGKATAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv

BAB SATU : PENGENALAN

1.0	Vanila	1
1.1	Lignin	7
1.1.1	Tandan kosong kelapa sawit	10
1.2	Kaedah pemecahan struktur lignin	13
1.2.1	Pengoksidaan nitrobenzena	16
1.3	Kaedah penghabluran	21
1.4	Kaedah percetakan sisipan molekul	23
1.5	Literatur	29
1.6	Objektif kajian	34
1.7	Skop kajian	34

BAB DUA : EKSPERIMENTAL

2.0	Pengenalan	36
2.1	Proses pengekstrakan lignin soda	37
2.2	Proses penulenan lignin soda	38
2.3	Pencirian lignin soda	38
2.3.1	Pengoksidaan nitrobenzena dan analisis kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC)	39
2.3.2	Analisis spektroskopi infra merah tranformasi Fourier (FT-IR)	40
2.3.3	Analisis ^{13}C -NMR	41
2.3.4	Ujian abu	41
2.4	Penghasilan dan pencirian vanilin	42
2.4.1	Pemisahan vanilin daripada lignin soda menggunakan proses penghabluran dan analisis kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC)	42
2.4.2	Analisis gas kromatografi (GC) dan gas kromatografi-spektrometer jisim (GCMS)	43
2.4.3	Analisis ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR	44
2.5	Penulenan sampel vanilin menggunakan kaedah percetakan sisipan molekul	44
2.5.1	Parameter tempoh	45
2.5.1.1	Penentuan Kandungan Gel	46
2.5.2	Parameter jisim	48
2.5.3	Penghasilan polimer kawalan	49

2.5.4	Penghasilan polimer menggunakan vanilin piawai dan sampel vanilin	49
2.6	Analisis gas kromatografi (GC) terhadap residu daripada proses refluks	50
2.7	Tindak balas polimer (acuan) dengan sampel vanilin daripada proses penghabluran	51

BAB TIGA : KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

3.0	Pengenalan	52
3.1	Pengekstrakan dan penulenan lignin	52
3.1.1	Penentuan ketulenan lignin dengan ujian kandungan abu	53
3.1.2	Analisis lignin soda melalui spektroskopi infra merah tranformasi Fourier (FT-IR)	54
3.2	Pemecahan struktur lignin soda melalui pengoksidaan nitrobenzena dan pencirian lignin soda melalui kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC)	57
3.3	Pemisahan vanilin daripada lignin soda melalui proses penghabluran	60
3.3.1	Analisis spektroskopi infra merah tranformasi Fourier (FT-IR)	61
3.3.2	Analisis kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC)	64
3.3.3	Analisis ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR	65
3.3.4	Analisis kromatografi gas-spektrometri jisim (GCMS)	74

3.4	Penulenan sampel vanilin menggunakan kaedah percetakan sisipan molekul	77
3.4.1	Pencirian polimer acuan daripada kaedah percetakan sisipan molekul	82
3.4.2	Analisis sampel vanilin menggunakan kromatografi gas (GC)	93
BAB EMPAT : KESIMPULAN DAN CADANGAN		95
SENARAI RUJUKAN		98
SENARAI PENERBITAN DAN SEMINAR		107
LAMPIRAN		109

SENARAI JADUAL

	Muka surat
Jadual 1.1 Unsur kimia utama di dalam tandan kosong kelapa sawit (TKKS)	9
Jadual 3.1 Masa penahanan bagi setiap komponen lignin lignin soda tulen	58
Jadual 3.2 Kepekatan kandungan komponen-komponen di dalam lignin soda tulen	59
Jadual 3.3 Ringkasan pencirian kumpulan-kumpulan berfungsi utama pada sampel mendakan yang dipercayai vanilin	63
Jadual 3.4 Anjakan kimia ^1H -NMR bagi vanilin piawai dan sampel vanilin	73
Jadual 3.5 Anjakan kimia ^{13}C -NMR bagi vanilin piawai dan sampel vanilin	73

SENARAI RAJAH

	Muka surat
Rajah 1.1	1
Rajah 1.2	3
Rajah 1.3	3
Rajah 1.4	4
Rajah 1.5	5
Rajah 1.6	8
Rajah 1.7	8
Rajah 1.8	9
Rajah 1.9	10
Rajah 1.10	10
Rajah 1.11	11
Rajah 1.12	12
Rajah 1.13	15
Rajah 1.14	17
Rajah 1.15	20
Rajah 1.16	23
Rajah 1.17	24
Rajah 1.18	26
Rajah 1.19	27
Rajah 2.1	36
Rajah 2.2	38

Rajah 2.3	Bom keluli yang digunakan untuk pemecahan lignin	39
Rajah 2.4	Sangkar yang bersaiz 100 mesh	46
Rajah 2.5	Sangkar yang telah dikepilkan	47
Rajah 3.1	Spektrum infra merah bagi lignin soda tulen	55
Rajah 3.2	Struktur lignin yang terdapat pada dinding sel sekunder kayu lembut yang menunjukkan banyak kumpulan hidroksil (-OH)	56
Rajah 3.3	Spektrum HPLC bagi komponen-komponen lignin soda tulen	58
Rajah 3.4	Struktur komponen-komponen yang terdapat dalam lignin soda	60
Rajah 3.5	Perbandingan spektrum IR bagi vanilin piawai dan sampel vanilin	62
Rajah 3.6	Kromatogram HPLC bagi vanilin piawai dan mendakan yang terhasil daripada kaedah penghabluran	64
Rajah 3.7	Perbandingan spektrum ^1H -NMR bagi vanilin piawai dan sampel vanilin	71
Rajah 3.8	Perbandingan spektrum ^{13}C -NMR bagi vanilin piawai dan sampel vanilin	72
Rajah 3.9	Spektrum jisim bagi sampel vanilin	76
Rajah 3.10	Spektrum jisim piawai untuk komponen vanilin yang terdapat dalam MS	76
Rajah 3.11	Peratusan rangkai silang bagi polimer mengikut tempoh masa yang dikaji	79
Rajah 3.12	Peratusan rangkai silang bagi polimer mengikut jisim bahan pemula yang digunakan	80
Rajah 3.13	Spektrum IR bagi polimer kawalan dan polimer acuan daripada vanilin piawai	83
Rajah 3.14	Cadangan mekanisme bagi polimer yang terbentuk hasil daripada proses pempilimeran	84
Rajah 3.15	Spektrum IR bagi polimer kawalan, polimer acuan daripada vanilin piawai dan sampel vanilin	86
Rajah 3.16	Termogram TGA bagi sampel vanilin yang diperolehi	88

	daripada kaedah penghabluran	
Rajah 3.17	Termogram TGA bagi vanilin piawai	89
Rajah 3.18	Termogram TGA bagi polimer acuan setelah ditindakbalaskan dengan sampel vanilin	91
Rajah 3.19	Termogram TGA bagi polimer kawalan	92
Rajah 3.20	Perbandingan kromatogram GC antara tiga sampel yang berbeza	94

SENARAI SINGKATAN

^{13}C -NMR	^{13}C -Nuclear magnetic resonance
^1H -NMR	^1H -Nuclear magnetic resonance
AIBN	2,2'-azobis(isobutironitril)
CHN	Karbon hidrogen nitrogen
DMSO ₄	Dimetilsulfoksida
EGDMA	Etilenaglikodimetakrilat
FID	Pengesan pengionan nyala
FT-IR	Spektroskopi infra merah transformasi Fourier
GC	Kromatografi gas
GCMS	Kromatografi gas-spektrometer jisim
HPLC	Kromatografi cecair berprestasi tinggi
JMR	Jisim molekul relatif
MAA	Asid metakrilik
ppm	Bahagian per sejuta (part per million)
RT	Masa penahanan
TGA	Analisis gravimetrik terma
TKKS	Tandan kosong kelapa sawit
UV-vis	Spektroskopi ultra ungu nampak
v/v	Isipadu per isipadu
w/w	Berat per berat

PENGUNAAN KAEDAH PERCETAKAN SISIPAN MOLEKUL DALAM PENULENAN VANILIN DARIPADA LIGNIN TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT

ABSTRAK

Kajian ini membincangkan tentang pemisahan dan penulenan vanilin daripada lignin yang diekstrak daripada likuor hitam tandan kosong kelapa sawit menggunakan asid sulfurik 20 % (v/v). Vanilin atau 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid merupakan komponen utama dalam lignin. Vanilin dihasilkan daripada pemecahan lignin dengan mencampurkan lignin ke dalam campuran 2 M NaOH dan nitrobenzena pada suhu 165 °C selama tiga jam. Kemudian, kaedah penghabluran digunakan untuk mengekstrak vanillin daripada sampel oksida menggunakan pelarut aseton sebanyak 15 mL ke dalam sampel oksida. Larutan tersebut dipanaskan menggunakan plat pemanas pada suhu 40-50 °C selama 15 minit sehingga mendakan terbentuk. Walau bagaimanapun, vanilin yang diperoleh mempunyai kandungan bendasing yang tinggi. Oleh hal demikian, kaedah percetakan molekul sisipan digunakan untuk menulenan mendakan tersebut. Kaedah sintesis dijalankan dengan menindakbalaskan sampel vanilin sebagai templat dengan dimetilsulfoksida (DMSO) sebagai pelarut, asid metakrilik (MAA) dan etil glikol dimetakrilat (EGDMA), masing-masing sebagai monomer dan polimer rangkai silang. Keputusan yang diperoleh ditentukan oleh gas kromatografi (GC), analisis resonans magnetik nuklear (^1H -NMR dan ^{13}C -NMR), spektroskopi Infra merah Tranformasi Fourier (FT-IR) dan analisis gravimetrik terma (TGA) dan dibandingkan dengan vanilin piawai. Daripada analisis yang dijalankan, ketulenan sampel vanilin yang diperoleh telah berjaya ditingkatkan dengan kaedah penulenan percetakan sisipan molekul.

APPLICATION OF MOLECULAR IMPRINTING POLYMERS IN VANILLIN PURIFICATION FROM LIGNIN OIL PALM EMPTY FRUIT BUNCHES

ABSTRACT

This research presents the study on separation and purification of vanillin from phenolic compounds in soda lignin extracted from the black liquor of oil palm empty fruit bunches (EFB) using 20 % (v/v) sulfuric acid. Vanillin or 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde is one of the major products obtained from lignin breakdown. Extraction of vanillin from empty fruit bunch (EFB) using alkaline nitrobenzene oxidation was carried out at 165 °C for 3 hours in 2 M NaOH follow by crystallization method. The suitable solvent to separate vanillin is acetone. Due to the solubility of vanillin in acetone, 15 mL of acetone was added to the residue of the oxidation products. Slowly the solution was heated to 40-50 °C for 15 minutes until crystal vanillin was precipitated. However, the vanillin that was obtained has impurity content. A molecular imprinting polymer (MIPs) technique was developed to purify the vanillin sample. A synthesis method was used in preparing the MIPs where the impure vanillin molecules were used as a template, dimethylsulfoxide (DMSO) as a solvent, and methacrylic acid (MAA) and ethyl glycol dimethacrylate acid (EGDMA) functioning as a monomer and a cross-linker, respectively. The results were confirmed by gas chromatography (GC), nuclear magnetic resonance (^1H -NMR and ^{13}C -NMR), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and thermal gravimetric analysis (TGA) of the sample against a standard vanillin. From the analyses, the purity of vanillin sample was increased with molecular imprinting polymers technique.

BAB SATU PENGENALAN

1.0 Vanila

Suatu masa dahulu, kaum Totonaco Indians di Mexico terkenal sebagai penghasil vanila yang terkemuka di dunia. Sehingga pada kurun ke-19, orang Perancis di Mexico mula mempelajari cara pendebungaan bunga dan cara menghasilkan vanila daripada kaum Totonaco Indian. Selain Mexico, penanaman orkid vanila atau nama saintifiknya *Vanilla planifolia* turut diterokai oleh beberapa buah negara seperti Madagaskar, Indonesia, Comoro, Uganda, India dan Tahiti. Setiap kawasan tersebut menghasilkan vanila yang mempunyai ciri-ciri dan strukturnya yang tersendiri. Negara pengeluar vanila terbesar di dunia ialah Madagaskar yang merupakan sebuah pulau di timur benua Afrika. Manakala, Indonesia pula merupakan negara pengeluar vanila yang kedua terbesar apabila tanaman tersebut mula dikomersialkan sekitar tahun 1850 [Utusan Malaysia, Mac 2007].



Rajah 1.1: Spesies *Vanilla planifolia* Andrew

Seiring dengan perkembangan teknologi canggih dan pemodenan dalam bidang pertanian di Malaysia, kini tanaman vanila mula diusahakan secara komersial di negara ini. Walaupun, terdapat lebih 100 jenis spesies vanila berjaya direkodkan tetapi sedikit sahaja dikenal pasti mempunyai nilai komersial yang antaranya ialah *Vanilla planifolia* Andrew dan *Vanilla tahitensis* J. W. Moore. Spesies *Vanilla planifolia* Andrew seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 1.1 merupakan spesies orkid tropika yang tumbuh menjalar pada pokok lain atau pancang kayu dan boleh menjalar sehingga lima meter [Kevin et al., 2000].

Kebiasaannya, kekacang vanila yang dikira matang dan sesuai untuk penghasilan vanila adalah bersaiz antara 12 hingga 15 cm panjang seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 1.2. Kekacang vanila kemudiannya dibalut dan disimpan di tempat yang bersuhu tinggi dan kering untuk mengelakkan pembiakan bakteria. Seterusnya, kekacang vanila dikeringkan di bawah cahaya matahari selama sehari dan disejukkan pada waktu malam selama beberapa hari. Pada peringkat ini kekacang vanila akan berwarna kehitaman, berminyak dan mudah lentur seperti yang ditunjukkan pada Rajah 1.3. Setelah itu, kekacang vanila dibiarkan mengering sekali lagi dalam kawasan terlindung selama dua bulan sebelum dipilih mengikut gred bagi proses berikutnya [Kosmo, Disember 2007].



Rajah 1.2: Kekacang vanila yang matang [Utusan Malaysia, Mac 2007]

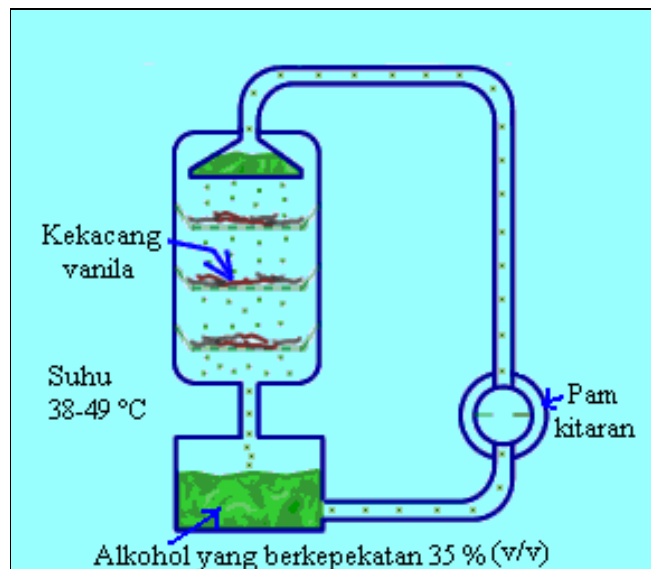


Rajah 1.3: Kekacang vanila yang telah dikeringkan [www.genesisny.net, 2008]

Secara umumnya, penghasilan vanila secara komersial melibatkan dua langkah utama iaitu proses pengempukan dan proses perkolasi. Melalui proses pengempukan, kekacang vanila yang dipotong antara satu hingga dua sentimeter direndam dalam alkohol yang berkepekatan 50 % (v/v) di dalam tong kayu dan disimpan selama setahun. Kepekatan alkohol dikawal agar tidak menjadi terlalu rendah sehingga ia boleh merosakkan aroma dan rasa pada kekacang vanila tersebut. Setelah lebih dari enam bulan, kekacang vanila yang

direndam sedia untuk melalui langkah pemprosesan seterusnya [Mohamad Ibrahim et al., 2008].

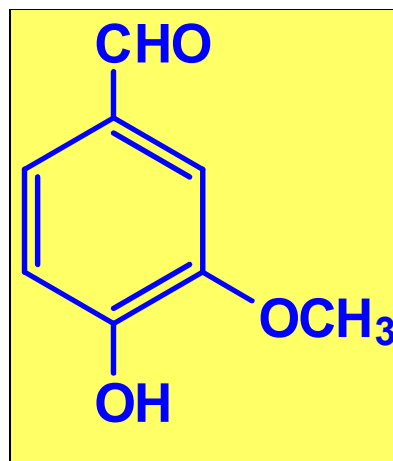
Pada peringkat perkolasi pula, bekas aloi yang berbentuk dulang yang berlubang digunakan. Kekacang vanila dipotong pada beberapa bahagian dan diletakkan di atas dulang tersebut dan dimasukkan ke dalam pam kitaran yang bersuhu antara 38 hingga 49 °C. Penggunaan pam kitaran dalam proses pengekstrakan vanila ini untuk memastikan alkohol tersebar pada kekacang vanila di dalam dulang secara sekata dan menyeluruh. Pengekstrakan vanila pada peringkat perkolasi ditunjukkan pada Rajah 1.4. Bahan-bahan seperti alkohol yang berkepekatan minima 35 % (v/v), kekacang vanila dan 1 liter larutan yang terdiri daripada campuran air, propilena glikol dan gula diperlukan untuk memastikan vanila yang diekstrak berkualiti [Kevin et al., 2000].



Rajah 1.4: Pengekstrakan vanila pada peringkat perkolasi

Secara umumnya, vanila yang terdapat di pasaran antarabangsa sememangnya diketahui mengandungi alkohol. Hal ini kerana alkohol merupakan bahan pengekstrak yang terbaik dalam proses pengekstrakan vanila. Walau bagaimanapun, gliserin daripada tumbuhan seperti minyak kelapa sawit kini telah digunakan dengan meluas untuk menggantikan penggunaan alkohol dalam proses pengekstrakan vanila. Hal ini untuk memastikan vanila yang diekstrak bebas daripada alkohol dan dijamin halal penggunaannya.

Vanila asli terdiri daripada beberapa sebatian aromatik iaitu vanilin dan piperonal. Walau bagaimanapun, komponen vanilin (Rajah 1.5) atau dalam istilah kimianya dikenali sebagai 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid merupakan komponen utama yang memberi bau dan rasa kepada vanila. Hal ini membuatkan vanila terkenal di seluruh dunia kerana kehebatan rasa dan keharumannya sekaligus digelar sebagai raja segala rasa [Sakho et al., 1997; Schnermann dan Schieberle, 1997].



Rajah 1.5: Struktur kimia vanilin

Selain digunakan secara besar-besaran dalam industri pembuatan ais krim dan produk minuman, vanila turut dikomersialkan dalam pembuatan minyak wangi, aromaterapi, coklat dan sebagainya. Vanila juga amat berguna dalam bidang kecantikan sebagai pelindung muka (masker), pewangi badan dan juga krim kecantikan. Kini, vanila juga berpotensi dalam bidang perubatan sebagai bahan antioksidan. Antioksidan sememangnya penting untuk melindungi tubuh badan daripada kesan radikal bebas yang merosakkan sel tubuh akibat terdedah pada asap rokok, bahan kimia beracun, sinar ultra ungu dan sebagainya. Antioksidan mampu meningkatkan daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit degeneratif seperti kanser dan jantung selain mencegah penuaan dan meningkatkan kesihatan kulit [Priefert et al., 2001].

Selain itu, seorang saintis dari Jepun iaitu Toshio Asakura yang merupakan penyelidik hemotologi telah menemui penawar bagi penyakit anemia dengan menggunakan vanilin. Penyakit anemia merupakan penyakit yang disebabkan oleh kekurangan sel darah merah atau kandungan hemoglobin yang tidak mencukupi dalam sel darah merah. Hemoglobin ialah sejenis pigmen dalam sel darah merah yang berfungsi untuk membawa oksigen daripada paru-paru kepada tisu-tisu. Kekurangan zat besi dalam hemoglobin merupakan antara sebab berlakunya penyakit anemia [Toshio dan Pui, 1978].

Hasil kajian Toshio Asakura mendapati, apabila seekor tikus diberi suntikan yang mengandungi komponen vanilin, ketahanan antibodi dalam tubuh tikus tersebut untuk terus hidup adalah lebih lama berbanding dengan tikus yang tidak diberi suntikan komponen vanilin. Hal ini kerana sel darah tikus yang tidak mendapat suntikan vanilin berada dalam keadaan tekanan oksigen yang rendah lalu menyebabkan sel darah tikus tersebut mengecut dan berbentuk

sabit. Oleh itu, vanila mempunyai masa depan yang cerah untuk dijadikan sebagai bahan dalam menghasilkan ubat-ubatan [Levasseur et al., 2004; Arab Health Magazine, 2004].

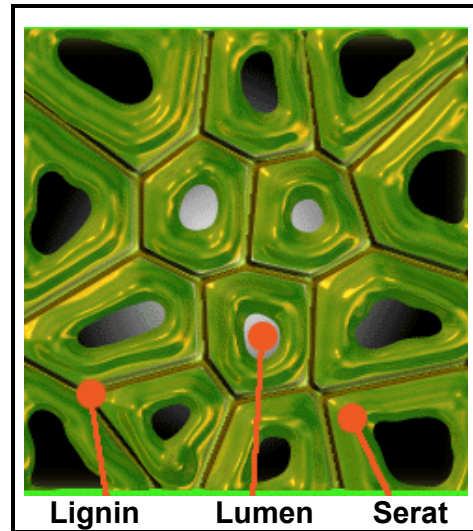
Memandangkan kegunaan vanila telah dipelbagaikan kepada beberapa produk komersial, maka permintaan penghasilan vanila semakin meningkat untuk memenuhi kehendak pasaran. Melalui kajian yang dijalankan dalam tesis ini, komponen vanilin turut dijumpai dalam lignin yang diperolehi daripada sisa buangan industri pemulpaan tandan kelapa sawit kosong. Disebabkan sumber lignin yang diperolehi dalam kajian ini adalah daripada sisa buangan maka usaha untuk memisahkan komponen vanilin daripada lignin adalah sangat penting untuk memastikan ketulenan vanilin yang diperolehi setanding dengan vanilin yang berada di pasaran.

1.1 Lignin

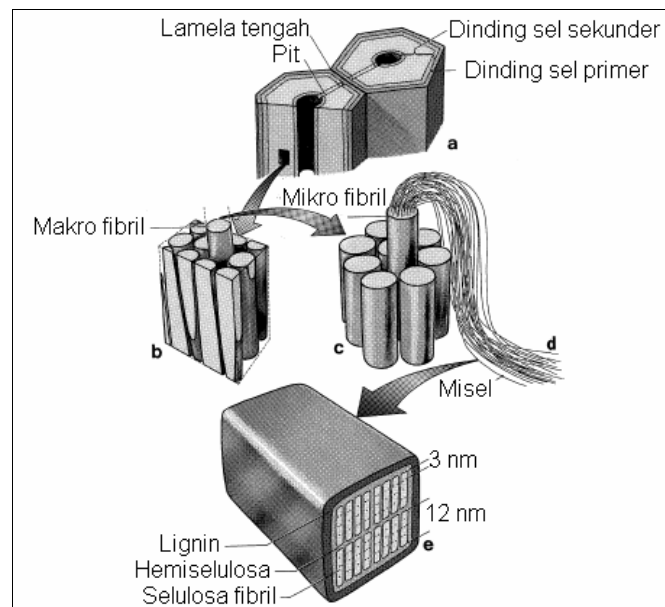
Lignin merupakan suatu bahan organik berwarna perang yang diperolehi daripada struktur tumbuhan seperti pada kulit, batang dan tisu. Lignin boleh didapati dalam semua jenis tumbuhan vaskular yang kebanyakannya ditemui di antara sel sekunder. Kedudukan lignin di dalam tumbuhan vaskular ditunjukkan pada Rajah 1.6. Lignin merupakan polimer kedua terbanyak dalam tumbuhan selepas selulosa berikutan kandungan lignin dalam tumbuhan berada dalam julat 17-30 % mengikut berat [Shawkataly dan Din, 2004]. Ia menjadikan tumbuhan kelihatan segar dan tegar.

Secara umumnya, lignin terdapat pada lamela tengah dan dinding sel sekunder kayu. Hal ini dapat ditunjukkan dengan jelas dalam Rajah 1.7. Ia bukan sahaja berfungsi sebagai komponen penyokong dan tisu pembawa

dalam tumbuhan bahkan menjadi pelindung kepada tumbuhan terhadap serangan mikroorganisma. Selain lignin, unsur-unsur kimia yang lain terdapat dalam kayu tumbuhan ialah selulosa, hemiselulosa dan abu. Jadual 1.1 menunjukkan peratusan unsur-unsur kimia yang terdapat dalam tumbuhan.



Rajah 1.6: Kedudukan lignin di dalam tumbuhan vaskular [Tokano et al., 1983]

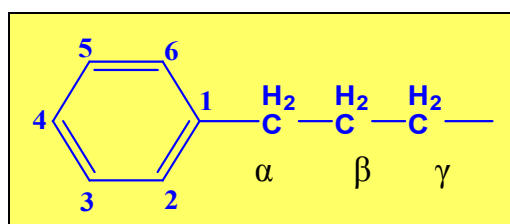


Rajah 1.7: Skematik dinding sel tumbuhan yang berkayu pada empat peringkat yang berbeza dengan magnifikasi yang diperbesarkan dari peringkat a hingga e [Hüttermann et al., 2001]

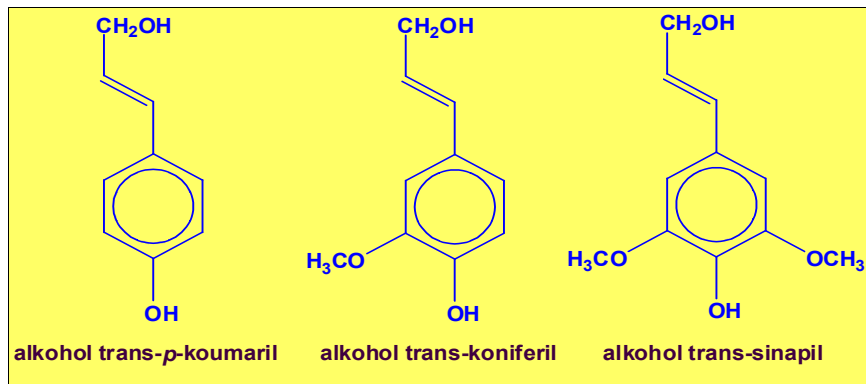
Jadual 1.1: Unsur kimia utama di dalam tandan kosong kelapa sawit (TKKS) [Abdul Khalil dan Rozman, 2004]

Unsur kimia (%)	Mohamad Husin et al. (1985)	Peh et al. (1976)	Kirkadly dan Susanto (1996)
Lignin	21.1	17.2	21-25
Hemiselulosa	-	17.2	35-42
Selulosa	65.5	70	-
Abu	3.5	0.7	5

Lignin merupakan jaringan polimer amorfus tiga dimensi yang terbentuk daripada unit-unit fenilpropana (Rajah 1.8) serta mempunyai darjah polimeran yang tinggi. Ia terdiri daripada 5 hingga 500 unit fenilpropana tertukarganti dan terikat secara rawak dengan kumpulan hidroksil dan metoksil dalam nisbah yang berbeza-beza. Hampir semua lignin semulajadi yang dijumpai adalah terbentuk daripada 3 monomer asas iaitu alkohol *p*-koumaril, alkohol koniferil dan alkohol sinapil [Stephen dan Carlton, 1992]. Rajah 1.9 menunjukkan struktur monomer-monomer tersebut. Kedua-dua rajah (Rajah 1.8 dan Rajah 1.9) dapat menjelaskan bahawa polimer lignin mengandungi kumpulan metoksil, hidroksil fenolik dan beberapa kumpulan aldehid pada hujung rantai sisi. Kebanyakan kumpulan berfungsi ini terikat pada rangkaian unit-unit fenilpropana yang bersebelahan.



Rajah 1.8: Unit-unit fenilpropana



Rajah 1.9: Struktur monomer-monomer asas dalam lignin [Sarkanen dan Ludwig, 1971]

1.1.1 Tandan kosong kelapa sawit

Secara umumnya, lignin yang digunakan dalam kajian ini diperoleh daripada bahan buangan kelapa sawit yang dikenali sebagai tandan kosong kelapa sawit (TKKS) seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 1.10. TKKS merupakan bahan buangan lignoselulosik yang diperoleh daripada industri perladangan kelapa sawit melalui proses peleraian buah sawit daripada tandannya. Ia dilakukan dengan menggunakan mesin penanggal buah.



Rajah 1.10: Tandan kosong kelapa sawit

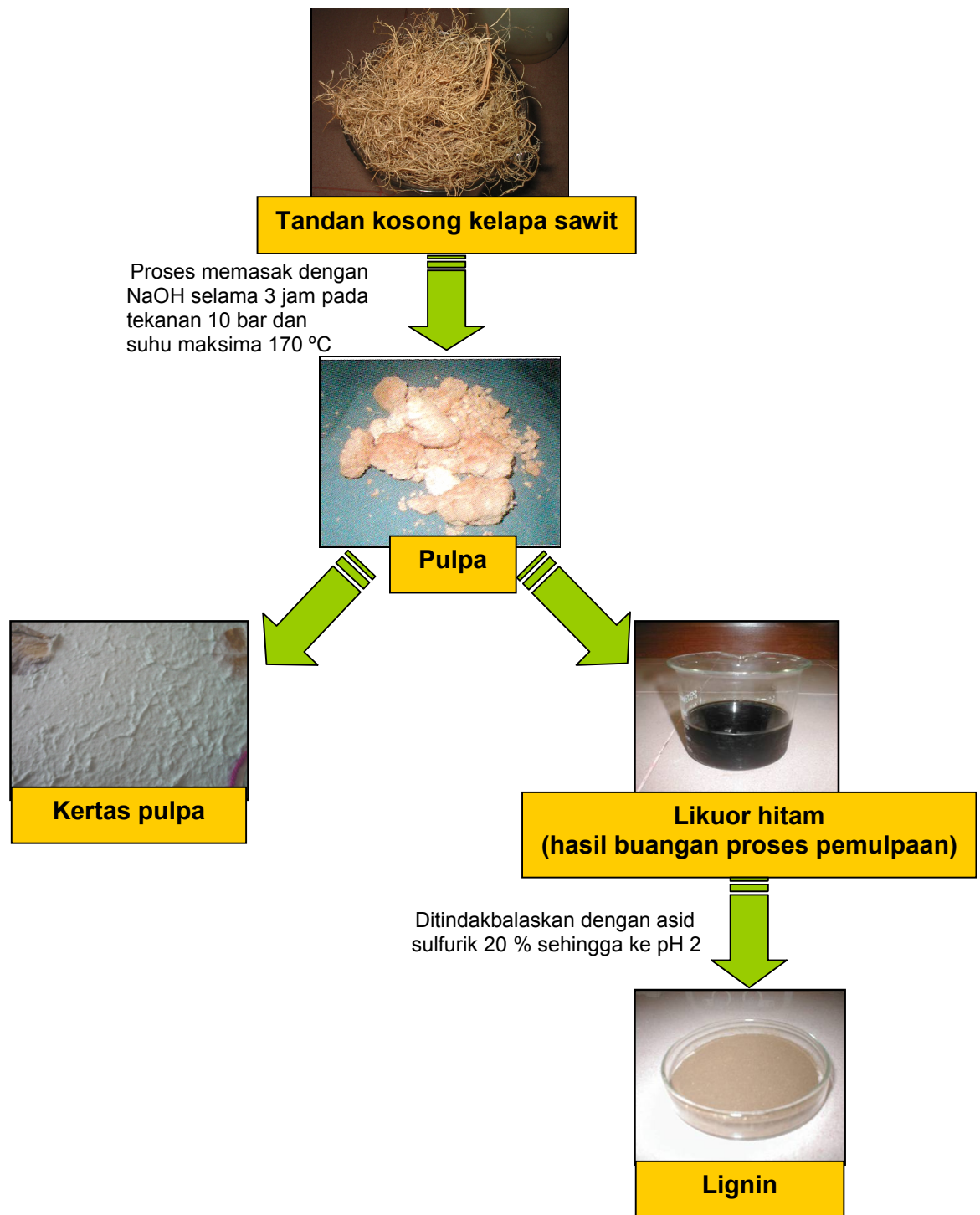
Hasil daripada penyelidikan yang berterusan, TKKS telah dikenalpasti sebagai bahan mentah alternatif bagi industri pulpa dan kertas [Wan Daud et al., 1998]. Serat TKKS ini akan diproses melalui proses pemulpaan untuk

menghasilkan kertas. Secara umumnya, proses pemulpaan merupakan suatu proses pemisahan gentian daripada serat secara pemulpaan kimia atau pemulpaan mekanik atau gabungan kedua-duanya untuk menghasilkan pulpa. Dalam proses ini, pengikat-pengikat gentian yang terdapat dalam kayu/serat akan dimusnahkan antara satu sama lain. Gentian-gentian ini akan dibentuk semula sebagai pulpa. Pulpa pula merupakan hasil asas kayu yang kebanyakannya digunakan untuk pembuatan kertas.

Melalui proses pemulpaan ini, satu lagi sisa buangan turut dihasilkan iaitu likuor hitam. Dalam kajian ini, likuor hitam TKKS diolah semula untuk menghasilkan lignin. Likuor hitam merupakan sisa buangan yang diperoleh daripada proses pemulpaan yang beralkali. Warna hitam yang muncul dalam likuor ini adalah disebabkan oleh sebatian lignin yang telah bertindak balas dengan natrium hidroksida dan larut ke dalam likuor. Rajah 1.11 menunjukkan likuor hitam yang diperoleh daripada proses pemulpaan yang beralkali manakala Rajah 1.12 pula menunjukkan ringkasan proses penghasilan kertas dan lignin.



Rajah 1.11: Likuor hitam yang diperoleh daripada proses pemulpaan beralkali



Rajah 1.12: Carta alir proses penghasilan kertas dan lignin daripada tandan kosong kelapa sawit

Industri pulpa dan kertas di Malaysia wajar bergerak ke arah pembuatan kertas daripada gentian TKKS sebagai bahan asasnya. Hal ini kerana TKKS boleh didapati pada kos yang murah dan bekalannya juga berterusan. Di samping itu dengan adanya TKKS ini, ia mampu mengurangkan kebergantungan industri pulpa dan kertas terhadap kayu sekaligus membantu usaha pelestarian alam semulajadi. Kajian ini merupakan kajian yang bersifat serampang dua mata, selain menghasilkan kertas daripada gentian TKKS, ia juga dapat mengatasi masalah pencemaran di kilang-kilang pemprosesan kelapa sawit. Selain itu, dengan adanya kilang kertas di Malaysia ia dapat mengurangkan import pulpa dan kertas negara. Oleh itu, galakan serta sokongan daripada kerajaan dalam memacu industri pulpa dan kertas yang bersumberkan tandan kosong kelapa sawit ini agar lebih berdaya saing seiring dengan industri-industri lain di negara kita wajar dipertingkatkan [Utusan Malaysia, 2002].

1.2 Kaedah pemecahan struktur lignin

Struktur lignin sukar ditentukan secara terus kerana ia terdiri daripada struktur makromolekul yang kompleks. Oleh yang demikian, struktur lignin perlu dipecahkan sebelum dianalisis melalui kaedah pengoksidaan. Terdapat beberapa kaedah bagi tujuan ini seperti pengoksidaan nitrobenzena, pengoksidaan kuprik oksida dan pengoksidaan kalium permanganat. Walau bagaimanapun, setiap kaedah pengoksidaan tersebut memberikan hasil-hasil yang berbeza. Sebagai contoh, proses pengoksidaan nitrobenzena menghasilkan vanilin dan siringaldehid sebagai hasil utama manakala proses pengoksidaan kuprik oksida pula menghasilkan asetoguaikon dan asetosiringon

sebagai hasil utama [Stephen dan Carlton, 1992]. Bagi proses pengoksidaan kalium permanganat pula, ia menghasilkan sebatian yang mempunyai kumpulan major asid karboksilik metil ester. Rajah 1.13 menunjukkan hasil-hasil pengoksidaan yang dijangkakan dalam proses pengoksidaan kalium permanganat [Stephen dan Carlton, 1992].

Pengoksidaan nitrobenzena dipilih dalam kajian ini kerana tindak balas pengoksidaan ini dapat memecahkan struktur lignin kepada struktur yang lebih kecil berbanding dengan proses pengoksidaan kuprik oksida dan kalium permanganat. Selain itu juga, melalui analisis kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC) dan analisis kromatografi gas (GC) mendapati bahawa, pengoksidaan nitrobenzena menghasilkan bilangan pecahan komponen pada kuantiti yang maksima di samping menghasilkan vanilin dan siringaldehid sebagai komponen utama berbanding dengan pengoksidaan kuprik oksida dan pengoksidaan kalium permanganat [Stephen dan Carlton, 1992].

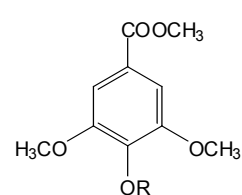
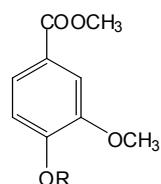
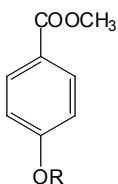
Kumpulan berfungsi
asid karboksilik

p-Hidroksifenil

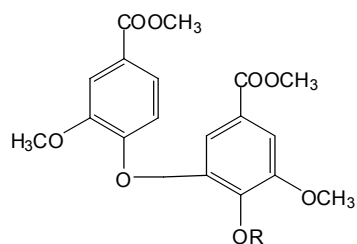
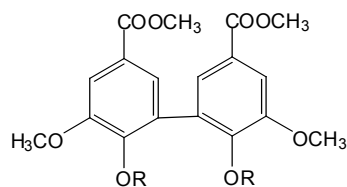
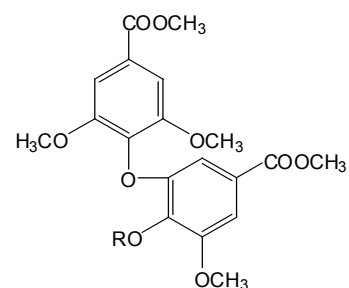
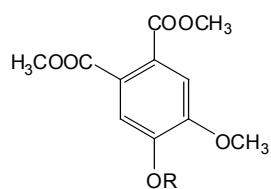
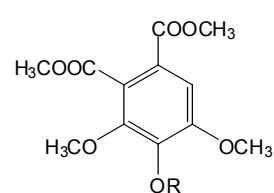
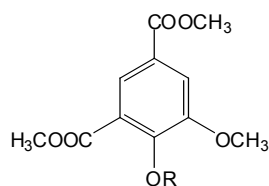
Guaiasil

Siringil

Mono



Di



Rajah 1.13: Hasil-hasil pengoksidaan kalium permanganat yang mempunyai kumpulan major asid karboksilik metil ester [Stephen dan Carlton, 1992]

1.2.1 Pengoksidaan nitrobenzena

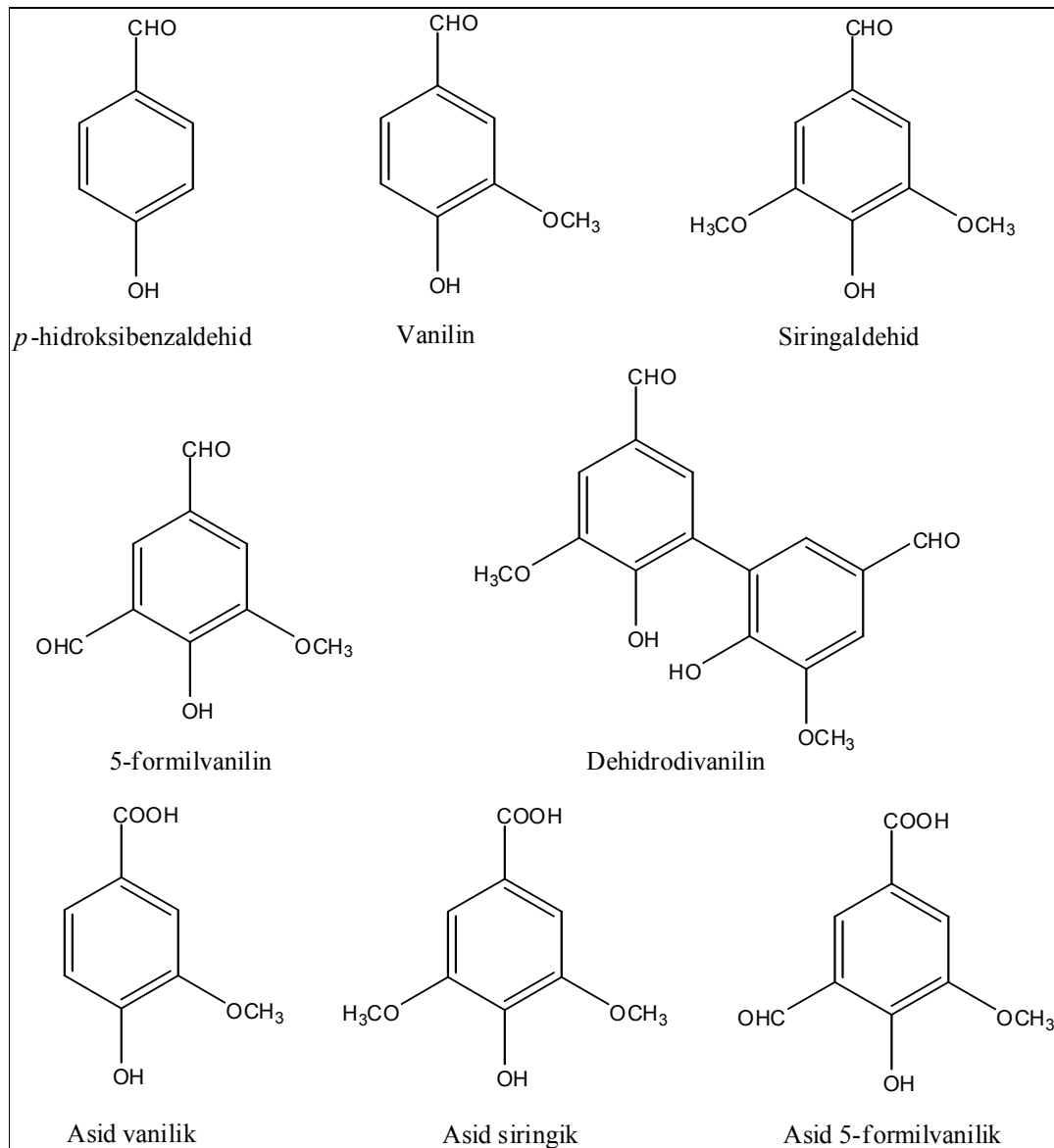
Pengoksidaan nitrobenzena terhadap lignin dalam larutan alkali telah diperkenalkan oleh Freudenberg pada tahun 1939 iaitu seorang saintis yang mengkaji tentang proses pemecahan struktur lignin [Stephen dan Carlton, 1992]. Proses ini dilakukan untuk mendapatkan gambaran yang lebih jelas atau bukti yang lebih kukuh tentang struktur sebenar lignin.

Leopold dan Malmström juga merupakan penyelidik yang mengkaji struktur lignin dengan menggunakan kaedah pengoksidaan nitrobenzena selepas Freudenberg. Mereka telah menjalankan pengoksidaan nitrobenzena terhadap lignin kayu lembut pada tahun 1952 [Leopold dan Malmström, 1952]. Dalam kajian mereka, lignin yang diperoleh adalah daripada beberapa spesies tumbuhan yang dikelaskan dalam kayu lembut seperti *Welwitschia*, *Ephedra*, *Gnetum*, *Tetraclinis*, dan *Podocarpus*.

Hasil yang diperoleh daripada proses pengoksidaan nitrobenzena terhadap lignin kayu lembut dan lignin kayu keras menunjukkan bahawa vanilin dan siringaldehid merupakan hasil utama. Secara umum, nisbah jisim dan molar bagi setiap kumpulan aldehid fenolik adalah bergantung kepada spesies tumbuhan yang dikaji. Keadaan tindak balas yang optimum bagi proses pengoksidaan nitrobenzena terhadap lignin telah dijelaskan oleh Leopold melalui model kajiannya.

Menurut beliau, jisim aldehid fenolik yang tinggi diperoleh melalui pengoksidaan lignin kayu lembut dengan nitrobenzena dan 2 M natrium hidroksida pada suhu 160 °C selama 3 jam. Keadaan eksperimen yang sama juga turut diaplikasikan ke atas lignin kayu keras. Kajian ini mendapati bahawa vanilin dan siringaldehid merupakan hasil utama manakala hasil sampingannya

ialah *p*-hidroksibenzaldehid, asid vanilik, asid siringik, asid 5-formilvanilik, 5-formilvanilin dan asid dehidrodivanilin [Stephen dan Carlton, 1992]. Rajah 1.14 menunjukkan struktur hasil-hasil yang diperoleh daripada pengoksidaan nitrobenzena terhadap lignin kayu keras.



Rajah 1.14: Struktur hasil pengoksidaan nitrobenzena bagi lignin kayu keras yang telah dikaji oleh penyelidik terdahulu [Stephen dan Carlton, 1992]

Dalam proses pengoksidaan nitrobenzena, natrium oksida digunakan berfungsi untuk menyediakan keadaan beralkali agar penyingkiran ion hidrogen pada sebatian lignin berlaku dengan mudah. Manakala nitrobenzena yang digunakan dalam larutan alkali adalah untuk menghasilkan sebatian oksida. Menurut Chang dan Allen yang merupakan penyelidik yang mengkaji mekanisme antara nitrobenzena dan lignin mendapati bahawa tindak balas nitrobenzena dalam larutan alkali lazimnya dianggap mempunyai pindahan dua elektron terhadap oksidanya (pada atom oksigen) lalu membuktikan proses pengoksidaan ini merupakan proses heterolitik iaitu suatu proses pemutusan ikatan yang menghasilkan ion-ion untuk membentuk hasil perantaraan kuinon metida [Chang dan Allen, 1971; Fengel dan Wegener, 1984].

Walau bagaimanapun, Shultz dan Templeton telah membuktikan bahawa pengoksidaan nitrobenzena pada sebatian hidroksibenzil alkohol telah melalui proses homolitik dan bukan heterolitik [Schultz dan Templeton, 1986; Schultz et al., 1987]. Hal ini dapat dibuktikan daripada data yang konsisten seperti kesan kinetik pada isotop, parameter haba dan analisis produk. Hal ini dapat diperjelas dengan lebih terperinci secara tindak balas kimia melalui mekanisme yang ditunjukkan dalam Rajah 1.15. Melalui Rajah 1.15, natrium hidroksida bertindak balas dengan lignin lalu menyingkirkan atom hidrogen. Proses penyingkiran proton tersebut akan menyebabkan adanya cas negatif pada atom oksigen. Kemudian, sebatian lignin anion ini bertindak balas dengan nitrobenzena untuk menyingkirkan satu elektron lalu membentuk sebatian lignin radikal. Kewujudan radikal tersebut menyebabkan sebatian lignin berada dalam keadaan yang tidak stabil. Hal ini menyebabkan proses pemutusan ikatan pada

sebatian tersebut untuk membentuk kumpulan aldehid dan komponen yang lebih ringkas diperoleh [Fisher et al., 1988; Dershem et al., 1988].

Kesimpulannya, hal ini menunjukkan tindak balas pengoksidaan nitrobenzena berlaku pada kumpulan hidroksilbenzil yang terdapat dalam struktur lignin dan bukan pada kumpulan *p*-hidroksil sahaja. Walau bagaimanapun, mekanisme tindak balas pengoksidaan nitrobenzena yang dibincangkan dalam kajian ini bukan merupakan skop utama. Oleh itu, ia dibincangkan secara umum sahaja.

Kajian ini mendapati bahawa komponen vanilin merupakan komponen utama dalam lignin TKKS diikuti dengan siringaldehid. Manakala hasil sampingan yang diperoleh daripada tindak balas pengoksidaan ini ialah *p*-hidroksibenzaldehid, asid vanilik, asid siringik dan asid *p*-hidroksibenzoik. Walau bagaimanapun, kajian tentang pemisahan komponen vanilin daripada lignin yang telah menjalani proses pengoksidaan nitrobenzena akan diberi perhatian dan dikaji dengan mendalam memandangkan ia banyak digunakan dalam pelbagai industri. Kaedah yang digunakan dalam kajian ini untuk memisahkan komponen vanilin daripada komponen-komponen lain dalam lignin ialah kaedah penghabluran.

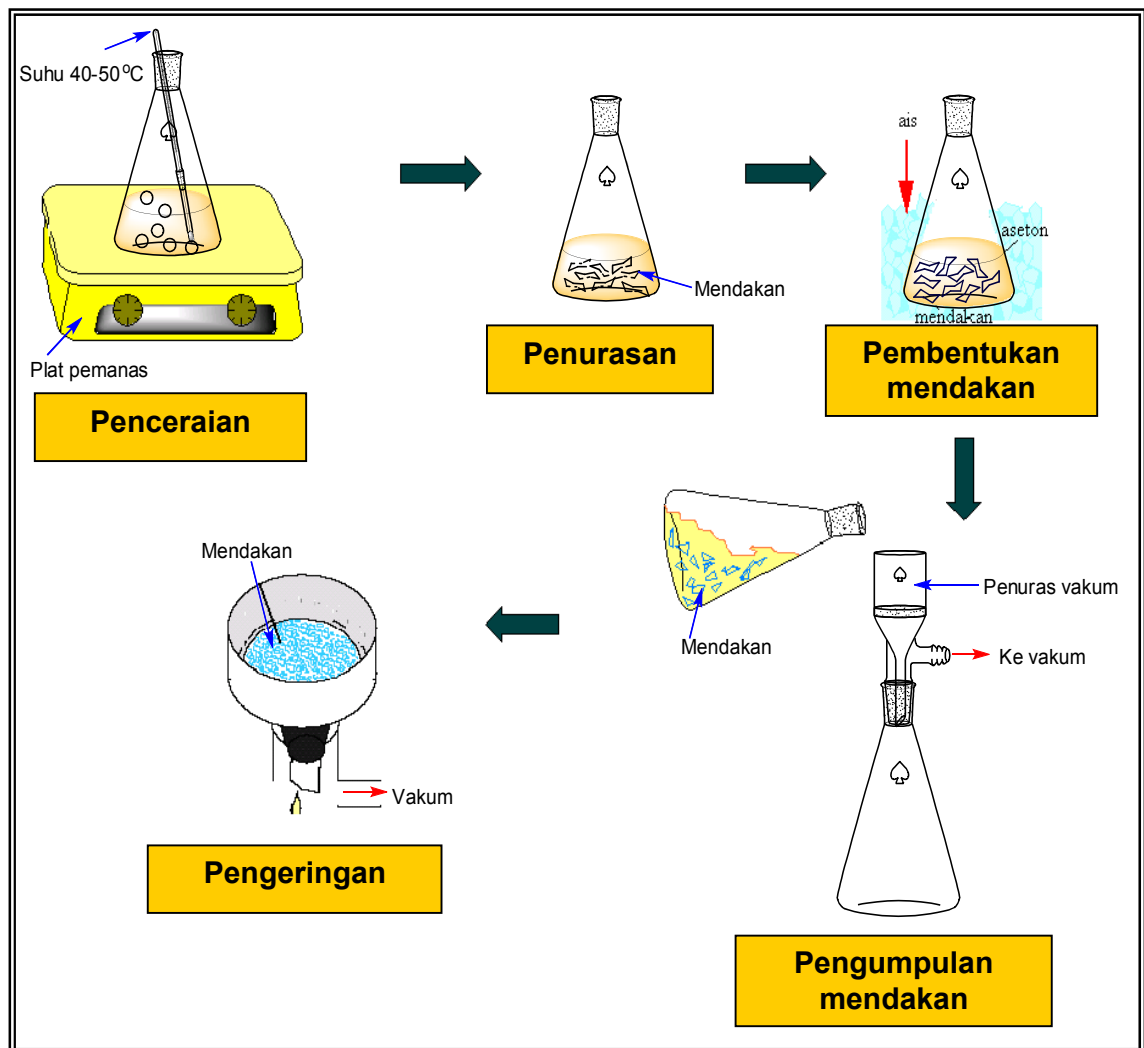
1.3 Kaedah penghabluran

Kaedah penghabluran merujuk kepada proses pembentukan mendakan dengan melarutkan bahan organik ke dalam larutan yang sedang dipanaskan pada suhu tertentu dan kemudiannya, larutan tersebut disejukkan untuk membentuk hablur. Kaedah penghabluran ini bergantung kepada keterlarutan sesuatu bahan organik yang dikaji. Secara kimianya, penurunan keterlarutan sesuatu bahan organik bergantung kepada suhu yang digunakan. Oleh itu, semasa proses penyejukan, keterlarutan bahan organik yang terlarut akan menurun dan menyebabkan hablur terbentuk. Proses ini perlu dijalankan secara perlahan supaya hablur yang terhasil sangat selektif dan tulen [Maeda, 2005].

Secara umumnya, komponen vanilin diekstrak daripada lignin menggunakan kaedah penghabluran yang terdiri daripada lima peringkat iaitu penceraian komponen daripada pelarut, penurasan, pembentukan hablur, pengumpulan hablur dan pengeringan. Sebelum langkah-langkah tersebut dijalankan, pelarut yang sesuai untuk melarutkan baki penyejatan daripada proses pengoksidaan nitrobenzena dikaji menggunakan kaedah cuba jaya. Pemilihan pelarut untuk kaedah penghabluran adalah sangat penting kerana ia mempengaruhi ciri keterlarutan bagi suatu bahan organik. Oleh itu, beberapa pelarut yang dapat melarutkan vanilin digunakan seperti aseton, metilena diklorida dan 2-propanol. Walau bagaimanapun, aseton dipilih sebagai pelarut kerana terdapat mendakan yang terbentuk semasa pemanasan dijalankan dalam kaedah penghabluran.

Melalui langkah pertama iaitu penceraian, larutan sampel dipanaskan di atas plat pemanas secara perlahan-lahan pada suhu 40-50 °C selama 15 minit. Semasa larutan ini dipanaskan, mendakan akan terbentuk sedikit demi sedikit di dasar kelalang. Setelah itu, kelalang tersebut disejukkan pada suhu bilik. Proses penurasan hanya perlu sekiranya terdapat bendasing seperti habuk, kotoran daripada persekitaran pada larutan tersebut.

Langkah seterusnya ialah pembentukan mendakan. Pembentukan mendakan sepatutnya dilihat semasa langkah penceraian lagi. Seharusnya kuantiti mendakan yang terbentuk bertambah semasa larutan disejukkan pada suhu bilik. Kelalang tersebut kemudiannya dimasukkan ke dalam rendaman ais pada suhu 0 °C dan dikacau menggunakan rod kaca. Mendakan yang terhasil dituras menggunakan kertas turas untuk mengasingkan mendakan daripada larutan. Mendakan dicuci menggunakan aseton sejuk supaya tiada partikel-partikel yang dijangkakan vanilin tertinggal pada kelalang. Mendakan tersebut kemudiannya dikumpul dan dikeringkan supaya tiada aseton pada partikel-partikel tersebut. Untuk memudahkan proses pengeringan, larutan tersebut boleh dituras menggunakan penuras vakum untuk mendapatkan mendakan vanilin.



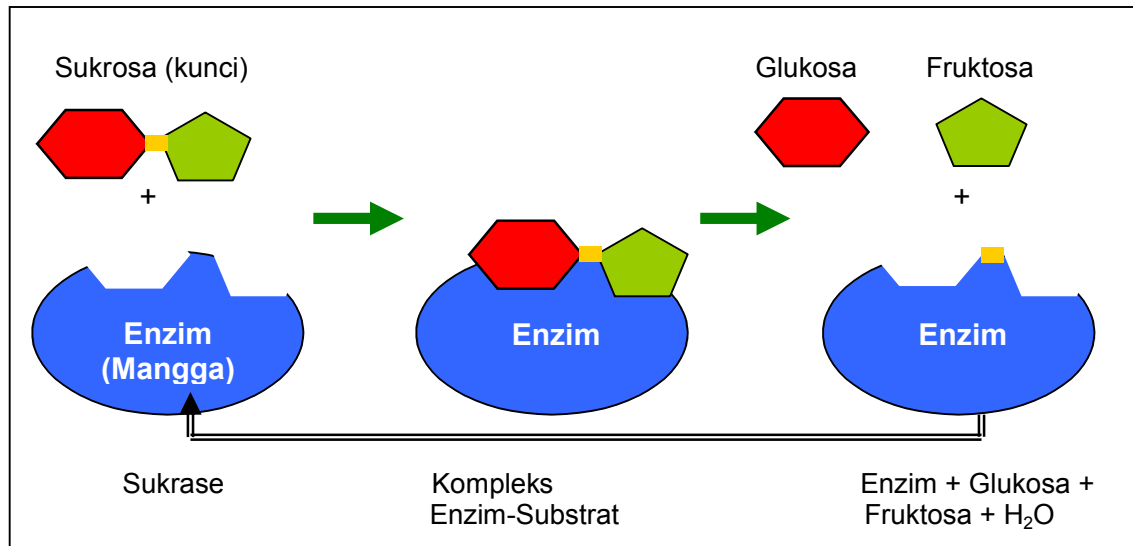
Rajah 1.16: Ringkasan kaedah penghabluran

Seterusnya, mendakan vanilin yang diperoleh dituliskan menggunakan kaedah percetakan sisipan molekul agar mendakan tersebut bebas daripada bendasing yang terdapat padanya.

1.4 Kaedah percetakan sisipan molekul

Kaedah percetakan sisipan molekul merupakan suatu teknik penghasilan acuan yang mengikut bentuk molekul yang dikehendaki dalam matrik polimer. Teknik ini adalah berdasarkan daripada sistem penyusunan enzim dan substrat dalam tubuh badan atau lebih dikenali sebagai 'mangga dan kunci'. Teori ini

telah diperkenalkan oleh Emil Fisher yang merupakan seorang saintis yang mengkaji tindak balas antara enzim dan substratnya pada tahun 1894. Rajah 1.17 menunjukkan model teori 'mangga dan kunci' dalam tindak balas enzim. Daripada rajah tersebut, didapati tapak aktif enzim dan struktur yang terdapat pada molekul substrat adalah saling melengkapi.



Rajah 1.17: Skematik penggabungan substrat kepada enzim seperti pemasangan kunci dan mangga

Secara umumnya, enzim yang terdapat dalam tubuh badan akan bergabung secara sementara dengan molekul substrat pada tapak aktifnya untuk membentuk kompleks enzim-substrat yang tidak stabil. Tindak balas ini berlaku disebabkan oleh tindak balas ikatan hidrogen dan tindak balas antara ion bagi kompleks tersebut. Setelah itu, molekul yang terbentuk akan meninggalkan tapak aktif enzim dan enzim yang bebas akan berfungsi semula untuk tindak balas seterusnya.

Kesinambungan daripada teori ini, satu bidang baru iaitu kimia biomimetik mula diterokai bertujuan untuk mengkaji ikatan kimia sesuatu molekul yang hampir menyerupai dengan tindak balas ikatan kimia yang